

Istituto d'IGIENE della R.
UNIVERSITÀ di Cagliari

DOTT. L. TRINCAS

B9 212

SU DI UNA FORMA
D'ANEMIA DEI CANI

dovuta a un virus filtrabile

ATTRAVERSO LE BERKEFELD W



CAGLIARI
Stab. Tipografico Ditta G. Dessi

1906

DOTT. L. TRINCAS



SU DI UNA FORMA
D'ANEMIA DEI CANI

dovuta a un virus filtrabile

ATTRAVERSO LE BERKEFELD W



CAGLIARI

Stab. Tipografico Ditta G. Dessì

—
1906

*Estratto dal « Bollettino della Società tra i Cultori delle Scienze
Mediche e Naturali in Cagliari » N. 3 — Maggio 1906.*

ISTITUTO D'IGIENE

DELLA R. UNIVERSITÀ DI CAGLIARI

Dott. **L. Trincas.** — *Su di una forma d'anemia dei cani dovuta a un virus filtrabile attraverso le Berkefeld W.*

Non c'è affezione che riconosca un'etiologia così multipla, una patogenesi così complessa come l'anemia, intesa nel senso oramai consacrato dall'uso, sia ch'essa rappresenti un sintoma di altra malattia, sia che trattisi d'anemia puramente essenziale.

Per molte forme l'etiologia è stata bene accertata, tanto che esse si possono riunire in gruppi di malattie ben definite, sebbene ancora, per alcune, non ostante le moderne teorie, rimanga oscura e variamente interpretata la patogenesi.

Ma se per alcune delle anemie, l'etiologia è stata dimostrata all'evidenza, per altre si può dire che ricerche serie, ben ponderate, riguardanti il lato etiologico, non siano state fatte che in questi ultimi tempi.

Fra le molte cause, capaci di dare un depauperamento del sangue richiamano oggi la nostra attenzione, quelle provocate da protozoi e da germi appartenenti alla categoria dei virus filtrabili.

Circa le anemie da protozoi è inutile insistere su quella data dallo *Sporozoo della malaria*, ormai ben nota anche nella sua patogenesi. Destano invece particolare interesse quelle da *Tripanosomi* e da *Piroplasmii*.

Si tratta di osservazioni fatte specialmente sugli animali, e di sommo interesse scientifico per i loro rapporti con la patologia umana.

Certe tripanosomiasi studiate soprattutto nei bovini, oltre il dimagrimento progressivo e un certo grado anemico dell'animale danno un'alterazione nella crasi sanguigna, consistente in una forte riduzione del tasso emoglobinico e in una diminuzione del numero

dei globuli rossi. Tale anemia secondo vari sperimentatori si spiegherebbe coll'esistenza di sostanze tossiche elaborate dai tripanosomi.

Altra infezione protozoaria, nella quale l'anemia costituisce uno dei sintomi salienti del quadro morboso, è la piroplasmosi, data da speciali protozoi, i piroplasmi, che infettano prevalentemente i bovini, gli equini ed i cani.

Anche nelle piroplasmosi il dimagrimento progressivo dell'animale, l'accentuata pallidezza di tutte le mucose visibili, l'alterazione della crasi sanguigna primeggiano su tutto il quadro fenomenologico della malattia.

E tale è il sintoma *anemia* in queste forme, che specie nei cani, nella Colonia Eritrea, ove la piroplasmosi è comunissima, prima degli interessanti studi dei dott. Martoglio, Memmo e Adami, essa veniva indicata col nome di *anemia dei cani*.

Queste osservazioni sono tanto più interessanti specie per l'analogia d'origine che dette anemie possono avere con certe forme nell'uomo.

Analogamente il Lefas in tre casi d'anemia nell'uomo, la quale aveva tutto il carattere di un'anemia perniciosa progressiva, riscontrò, all'esame del sangue dei corpuscoli intra-extraglobulari da μ 1 a 2 per 5 di diametro, colorantesi con l'ematossilina e col metodo di Laveran e Nocard, corpuscoli che il Lefas ritenne di natura parassitaria e, secondo lui, molto affini ai piroplasmi. Sperimentalmente ancora, il Lefas potè riprodurre nel coniglio, per iniezione intravenosa del sangue d'uno dei casi, la forma emoleucocitaria, quale avea osservato nell'uomo, con presenza di corpuscoli nel sangue e nel protoplasma delle grandi cellule del reticolo della milza.

Altra causa importantissima d'anemia, si è dimostrata recentissimamente esser data da speciale virus filtrabile.

Vanno sul proposito citati gli studi del Carré e del Vallée, su una particolare affezione dei cavalli, che si manifesta con i segni d'un'anemia progressiva e che termina quasi sempre con la morte.

I due sperimentatori poterono dimostrare che filtrando il siero di sangue di un cavallo infetto attraverso le candele Berkefeld, le Chamberland F e B, il filtrato inoculato in un cavallo sano, era capace di provocare l'identica forma morbosa.

I risultati di queste ricerche sono interessantissimi, in quanto portano alla conclusione, che certe forme di anemie sono da considerarsi come malattie contagiose, inoculabili e quindi diffusibili.

Le mie osservazioni si riferiscono a una speciale affezione, manifestatasi con tutto il quadro sintomatologico tipico di una grave anemia, sotto forma epizootica, in cani di un privato.

La malattia si inizia con malessere generale, abbattimento, tristezza, inappetenza, che può giungere sino all'assoluto rifiuto del cibo. I cani malati tengono per lo più gli occhi chiusi, il capo richino: stanno immobili, sonnolenti: se si costringono a muoversi a stento si reggono in piedi e prendono un'andatura incoordinata e barcollante. Col progredire dell'affezione si notano profonde alterazioni nella nutrizione, forte diminuzione di peso, notevole dimagrimento, tale che si scorgono in modo evidente le parti salienti delle ossa. Ciò che colpisce all'ispezione oltre il dimagrimento è l'estrema pallidezza della cute e di tutte le mucose visibili.

L'esame del sangue rivela riduzione del tasso emoglobinico e diminuzione del numero dei globuli rossi. Il corso della malattia è lento e dura generalmente varie settimane e si termina quasi sempre con la morte. La malattia colpisce in prevalenza i cani giovani: venivano colpiti quelli non appena giunti ai due o tre mesi d'età.

All'autopsia si riscontra scarsissimo e in genere privo di grasso il tessuto cellulare sottocutaneo. Spicca il forte grado anemico di tutti gli organi, le masse muscolari sono pallidissime: in qualche caso riscontrasi rigonfiamento torbido del muscolo cardiaco, fegato grasso e la milza ingrossata. Si hanno insomma molti dei caratteri che si osservano nelle malattie croniche cachettiche.

Ricerche sull'etiologia della malattia.

1ª Serie di ricerche. - Esame microscopico e batteriologico. — Si aspira con la siringa di Roux, con la più scrupolosa tecnica, per evitare ogni eventuale inquinamento, dalla giugulare di un cane malato, una certa quantità di sangue, che si sottopone a ricerche microscopiche e batteriologiche.

I preparati a fresco e i preparati colorati, praticati adoperando i comuni metodi di osservazione microscopica, sortirono esito negativo, circa la presenza di qualche elemento organizzato, fosse esso di natura microbica o protozoica, che si potesse considerare quale agente causale dell'affezione in discorso.

Parimenti negativi furono gli esami batteriologici. Appena estratto il sangue se ne fecero delle semine nei comuni substrati, che rimasero perfettamente sterili.

Alla morte dell'animale si ripeté tale ordine di ricerche, aggiungendosi all'esame microscopico e batteriologico del sangue del cuore, quello di alcuni visceri, procurando di sezionare l'animale poco tempo dopo la morte, per evitare la possibile diffusione post-mortale in tutti i visceri, di germi dell'intestino, ciò che naturalmente avrebbe generato confusione in tale serie di esperienze. Il risultato però anche in questo caso, sia dell'esame microscopico che batteriologico fu affatto negativo.

2ª Serie di ricerche. - Riproduzione sperimentale della malattia. — Si estraggono dalla giugulare di un cane malato, sempre evitando ogni causa d'inquinamento, 10 cc. di sangue: questo viene defibrinato, indi inoculato nelle vene di altro cane sano giovane. Subito dopo l'inoculazione il cane si presenta intontito, col capo penzoloni, gli occhi semichiusi, non si può reggere in piedi, è cascante e barcollante. Il giorno dopo si manifesta un malessere generale, estrema prostrazione, l'animale rifiuta il cibo. Si nota una diminuzione di peso: la pelle e le mucose visibili sono profondamente pallide. Il tasso emoglobinico s'è ridotto, è diminuito il numero dei globuli rossi.

L'esame del sangue microscopico e batteriologico non mette in rilievo alcunchè di interessante.

Al terzo giorno l'animale muore, con i sintomi quindi d'una anemia acuta.

All'autopsia tutti gli organi si presentano pallidissimi: negativo il reperto delle ricerche microscopiche e batteriologiche del sangue e dei visceri.

Ripetuto l'identico esperimento in altri due cani si è avuto lo stesso risultato. Adunque mediante l'inoculazione in altri cani, di sangue di un cane malato si è potuto riprodurre sperimentalmente un quadro morboso particolare, in cui al fenomeno anemia si è aggiunta l'accentuazione di tutti i sintomi: però, la malattia decorse in modo acuto, con esito letale in un breve numero di giorni.

Intanto se questa ricerca confermava la natura infettiva della forma morbosa in istudio, nulla dimostrava circa la natura dell'agente patogeno. Allora attesi i risultati negativi avutisi nelle precedenti ricerche, usando i comuni metodi di indagine microscopica e batteriologica per mettere in evidenza l'agente causale della malattia, si diressero le ricerche a vedere se questo fosse di quelli filtrabili e ultramicroscopici.

3ª Serie di ricerche. - Filtrazione del sangue infetto.

1º Esperimento: Iniziai questo ordine di ricerche filtrando il sangue di un cane malato attraverso le piccole candele Berkefeld V.

Per ogni esperienza furono sempre usate candele nuove. Prima di essere adoperate, venivano sottoposte a una prova preliminare per guarentirsi della mancanza di fenditure o di pori molto grossi. Inoltre scelta la candela, questa veniva sterilizzata nell'autoclave.

Il sangue estratto scrupolosamente dall'ultimo cane infetto, veniva diluito in soluzione fisiologica di cloruro di sodio nelle proporzioni di 1:30 e filtrato sotto un'aspirazione di 760 mm. di Hg. (prodotta da una tromba a caduta d'acqua) per una durata di pochi minuti.

Dal filtrato si allestivano delle colture di controllo in agar a becco di clarino, che si tenevano in termostato a 37° per 5 giorni. Parte del filtrato, e precisamente 10 cc., non appena espletata la filtrazione, veniva inoculata nelle vene di altro cane sano giovane.

La semina del filtrato nell'agar, dopo 24 ore, diede luogo allo sviluppo di uno stafilococco aureo, in coltura pura, il quale è stato capace di dare inoculato in altro cane una tipica stafilococcemia, quindi una lesione assai diversa da quella dell'anemia dei cani in osservazione.

Gli esami batteriologici frattanto del sangue del cane, da cui s'era estratto il sangue per la filtrazione, davano lo stesso reperto batteriologico, per cui non eravi dubbio che il piogene si trovasse nel sangue dello stesso cane, e facevano sospettare che esso fosse passato attraverso, la candela, dal momento che la filtrazione era stata fatta con ogni regola e nel più breve tempo possibile (1).

Certo però questo stafilococco non poteva considerarsi quale agente patogeno della forma morbosa, che presentavano i cani in istudio, innanzi tutto per il dato clinico, — la forma di anemia presentava

(1) Per risolvere la quistione emulsionai in soluzione fisiologica un po' di patina di coltura in agar a becco di clarino di 48 ore dello stesso stafilococco.

L'emulsione veniva fatta stemperando la patina nella soluzione fisiologica, sino a che questa assumeva un aspetto lattescente.

La filtrazione si fece seguendo la tecnica accennata.

Ora, il filtrato seminato nell'agar a becco di clarino diede sviluppo allo stesso stafilococco.

Trattavasi quindi di un micrococco capace di attraversare i pori delle Berkefeld V. Del resto è risaputo che queste candelette Berkefeld V, non sempre trattengano i comuni batteri.

tali sintomi ben caratterizzati da fare escludere, senz'altro, si trattasse di una stafilococcemia —; in secondo luogo gli esami sia microscopici, che batteriologici del primitivo sangue infetto, fatti nelle esperienze precedenti avevano dati risultati affatto negativi, per quel che si riferisce ad alcun germe visibile e coltivabile con i metodi ordinari. Però poteva nascere il dubbio che la forma di anemia fosse dovuta ai prodotti del piogene, che si trattasse cioè di una specie di pseudo-anemia.

Per risolvere la quistione non rimaneva che passare alla filtrazione del sangue attraverso ad un materiale a pori più piccoli e precisamente alle Berkefeld W.

Eseguii perciò questa seconda serie di esperimenti.

2° Esperimento: Il sangue del cane malato, diluito nelle porzioni di 1:30 fu filtrato attraverso una candela Berkefeld W, seguendo la più scrupolosa tecnica, come per la filtrazione attraverso le Berkefeld V, avendo cura di far durare pochi minuti la filtrazione. Espletata, dal filtrato si allestivano dei preparati microscopici e degli innesti molteplici in agar a becco di clarino, che si tenevano in termostato a 37°.

I preparati microscopici non misero in rilievo la presenza di alcun germe visibile. E tale risultato negativo microscopico ebbe ampia conferma con quello batteriologico, dacchè tutti gli innesti nell'agar rimasero perfettamente sterili.

Di questo filtrato vennero inoculati 10 cc. nelle vene di altro cane. Subito dopo l'inoculazione il cane presenta il solito sbalordimento, non si può reggere in piedi; stimolato a muoversi barcolla e ricade su sè stesso.

Il giorno dopo si inizia il malessere generale: l'animale è evidentemente abbattuto, sta sempre coricato, rifiuta il cibo, è diminuito di peso.

Al secondo giorno oltre il rapido dimagrimento dell'animale ciò che più colpisce è l'estrema pallidezza della cute e di tutte le mucose visibili.

Il sintoma anemia viene confermato dall'esame del sangue, che rivela una diminuzione del numero dei globuli rossi e una riduzione del tasso emoglobinico.

Negative, come sempre, le ricerche microscopiche e batteriologiche fatte sul sangue al 2° giorno dall'inoculazione.

Tutti i sintomi ricordati si accentuano nei giorni successivi,

finchè al 4° giorno l'animale muore, con tutto il quadro di una anemia gravissima, a decorso rapido. Il reperto necroscopico è in tutto simile a quello descritto per l'infezione spontanea.

Adunque col filtrato attraverso le Berkefeld W, del sangue di un cane infetto, filtrato batteriologicamente sterile, s'è riprodotta sperimentalmente la forma morbosa caratteristica, però in modo acuto; il che può essere in rapporto colla esaltazione del germe, nella sua virulenza, dopo tale primo passaggio dal cane infetto in un cane sano.

4ª Serie di ricerche. - Trasmissibilità della anemia in serie col filtrato sterile. — Per affermare però che la natura del virus era realmente ultramicroscopica, occorreva vedere se il sangue del cane infettato artificialmente fosse capace di infettare un altro cane: in altre parole, se il virus era trasmissibile in serie. Perciò al 3° giorno da che s'era fatta l'inoculazione del filtrato colle Berkefeld W, si estrassero dal cane, che già presentava tutti i sintomi caratteristici della malattia, 10 cc. di sangue, il quale, dopo essere stato defibrinato, venne inoculato nelle vene di altro cane sano giovane. Il cane così inoculato presentò il quadro clinico completo descritto, con la differenza che i sintomi generali sono comparsi dopo il 2° giorno, e l'esito della malattia s'ebbe in settima giornata.

Da questo cane pure al 3° giorno si estrassero, come nell'esperienza precedente, 10 cc. di sangue, il quale, sempre seguendo lo stesso metodo, venne inoculato nelle vene di un terzo cane, che presentò lo stesso processo morboso, terminando con la morte dell'animale in dodicesima giornata.

Come si vede il sangue del terzo passaggio riprodusse la anemia e questa mostrò di assumere tale carattere, da farla accostare per decorso all'infezione spontanea.

*
*
*

Da tutto quanto precede risulta evidente che *la forma morbosa dei cani, oggetto delle accennate osservazioni, è una malattia contagiosa, inoculabile, dovuta a un agente che rientra nella categoria dei microbi filtrabili.*

Le principali lesioni che si osservano costantemente e che

hanno maggiore importanza sono quelle che si riferiscono al sangue: il sintoma anemia, di fatti, domina tutto il quadro clinico della malattia.

Di tale affezione non se ne ha ancora alcuna nozione in clinica veterinaria. Probabilmente essa sino adesso venne confusa con altre forme, che nulla hanno di comune con essa. Non credo però opportuno stabilire delle diagnosi differenziali.

Dirò solo che, siccome questa speciale forma di malattia colpisce a preferenza i cani in giovane età e viene sostenuta da un virus filtrabile, alcuno potrebbe sospettare trattarsi della morva o moccio dei cani detta dai Francesi *malattia dei giovani cani*, la quale sarebbe, secondo alcuni, sostenuta da un virus filtrabile e ultramicroscopico.

Ma la sintomatologia della speciale malattia da me presa in esame è così bene caratterizzata, ch'essa non mi pare possa riportarsi, giacchè mancano in essa tutte e tre le note manifestazioni, sotto cui può presentarsi la morva dei cani.

Si tratta nel mio caso di una infezione, cui dovrebbero dare il nome di *anemia infettiva dei cani*, infezione che probabilmente è analoga a quella studiata dal Vallée e dal Carré nei cavalli.

Conclusioni.

1°) I giovani cani possono essere affetti da una forma di anemia contagiosa, che considerata dal punto di vista clinico e anatomopatologico si distingue da tutti gli altri processi morbosi che sinora furono descritti nei cani;

2°) Gli esami microscopici e batteriologici del sangue più accurati non mettono in evidenza alcun germe visibile: si può escludere che i comuni stafilococchi piogeni, che eventualmente si trovarono nel sangue di un cane malato, avessero rapporto coll'etiologia della malattia;

3°) Si può invece riprodurre sperimentalmente il quadro morboso della malattia col filtrato assolutamente amicrobico del sangue dei cani ammalati, ottenuto attraverso alle Berkefeld W;

4°) La malattia che si provoca nei cani coll'inoculazione del filtrato è trasmissibile in serie e nei passaggi successivi da cane a cane essa acquista il tipico modo di decorrere dell'infezione spontanea.

Bibliografia.

Vallée e Carré. — *Sulla natura infettiva dell'anemia del cavallo.*
(C. R. Acad. Sciences t. CXXXIX, 25 Luglio 1904 p.p. 331-333 e t. CXXXIX 26 Dicembre 1904 p.p. 1239-1241).

Carré. — *Sulla malattia dei giovani cani.* (C. R. Acad. Sciences t. CXL 6 Marzo 1905 p.p. 689-690 e 29 Maggio 1905 p.p. 1489-1491).

Oskar R. von Wunschlein. — *Ricerche sulla etiologia della malattia dei giovani cani.* (Arkiv. f. Hyg. t. LIII f. 1 p. 1).

Memmo, Martoglio, Adani. — *Infezioni protozoarie negli animali domestici in Eritrea.* (Piroplasmosi e Tripanosomiasi).
Annali d'Igiene sper. - Roma. 1905.

Lefas. — *Sulla presenza di corpuscoli speciali in un caso d'anemia grave.* - Arch. médecin expér., t. XVII, janvier 1905 p.p. 87-90. — Arch. gén. médec. 21 mars 1905. pp. 705-710, 1 pl.
